

HISTORIA DE VIDA DE *Daphnia magna* Y *Ceriodaphnia reticulata* EN CONDICIONES DE LABORATORIO: USO POTENCIAL COMO ALIMENTO PARA PECES

HISTORY OF LIFE OF: *Daphnia magna* AND *Ceriodaphnia reticulata* IN LABORATORY CONDITIONS: POTENTIAL USE AS FEED FOR FISHES

GÁNDARA, MARIO¹ Biol., LEITE, ROSSEVAL² Dr., CARABALLO, PEDRO³ Dr.

¹Maestría en Acuicultura y Ecología Acuática Tropical, Universidad del Magdalena. ² Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia, Brasil. ³ Universidad de Sucre, grupo de Biodiversidad Tropical.

*Correspondencia: mario_gandaramolino@yahoo.es

Recibido: 29-10-2012; Aceptado: 25-05-2013.

Resumen

Los cladóceros por su pequeña talla, rápido desarrollo y temprana reproducción, son utilizados como alimento vivo en piscicultura. Este trabajo tuvo como objetivo estudiar la historia de vida de *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea - Cladocera), bajo condiciones de laboratorio para definir su potencial como alimento en piscicultura. Fueron realizados cultivos experimentales de *D. magna* y *C. reticulata* manteniendo 12 individuos por especie en recipientes independientes de 100 ml. Como alimento se utilizó seston proveniente de la ciénaga de San Marcos – Sucre, filtrado con malla de 40 µm y mantenido en dos acuarios de 25 litros. Los parámetros poblacionales fueron medidos cada 12 horas a lo largo del periodo de vida de los especímenes. El tiempo del desarrollo embrionario fue de 16 horas para *C. reticulata* y 24 horas para *D. magna*. Se obtuvieron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) en el crecimiento poblacional, siendo mejor el desempeño de *C. reticulata* (fecundidad media de 1.12 neonatos/hembra, edad y talla de la maduración de 5.9 días y 77.9 µm, respectivamente) que el de *D. magna* (fecundidad media de 0.71 neonatos/hembra, edad y talla de la maduración de 9 días y 256 µm, respectivamente). Los cladóceros estudiados mostraron diferencias en los parámetros poblacionales, lo que sugiere estrategias de adaptación diferentes con relación al recurso alimenticio ofrecido. En general se encontró que por su tamaño y rápido crecimiento son potencialmente útiles como alimento al inicio de la alimentación exógena de postlarvas de *Prochilodus magdalenae*, *Brycon sinuensis* y *Colossoma macropomum*, principales especies piscícolas en la región.

Palabras claves: seston, alimento vivo, larvicultura, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia reticulata*.

Abstrac

Cladocerans by its small size, rapid development and early reproduction, are used as live food in aquaculture (fish farming). This work aims to study the life history of *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea - Cladocera) under laboratory conditions to determine their potential as food in aquaculture

(fish farming). Experimental cultivations of *D. magna* and *C. reticulata* 12 individuals by maintaining species in separate containers of 100 ml. As seston food was used from the swamp of San Marcos - Sucre, filtered with 40 - micron mesh and maintained in two 25-liter aquariums. The population parameters were measured every 12 hours throughout the lifetime of specimens. Embryonic development time was 16 hours for *C. reticulata* and 24 hours for *D. magna*. There were significant differences ($P \geq 0.05$) in population growth, with better performance *C. reticulata* (average fertility of 1.12 infants/female, age and size at maturity of 5.9 days and 77.9 μm , respectively) than *D. magna* (average fertility of 0.71 infants/female, age and size at maturity of 9 days and 256 μm , respectively). The cladocerans studied showed differences in population parameters, suggesting different adaptation strategies in relation to food resource offered. In general it was found that due to its size and rapid growth are potentially useful as food at the start of exogenous feeding of postlarvae *Prochilodus magdalenae*, *Brycon sinuensis* and *Colossoma macropomum*, major fish species in the region.

Key words: seston, live food, larvicultura, *Daphnia magna*, *Ceriodaphnia reticulata*

Introducción

Las altas tasas de crecimiento poblacional de los cladóceros están asociadas con la partenogénesis y la alta producción de neonatos, características que favorecen su uso con fines prácticos, tales como alimento para la cría de diversos peces, principalmente en los primeros días de vida de las especies de consumo y ornamentales (SIPAÚBA, 1993; PRIETO, 2001; PRIETO *et al.*, 2006a; SIPAÚBA y ROCHA, 2003). Adicionalmente, estos microcrustáceos son de gran utilidad para la piscicultura ya que representan aporte nutritivo, tienen un rápido ciclo de vida, producen una gran población en un corto periodo de tiempo y son presa fácil para larvas de peces (PRIETO, 2001; KEPPELER y HARDY, 2002; SIPAÚBA y ROCHA 2003; PRIETO *et al.*, 2006a; OCAMPO *et al.*, 2010).

En la actualidad, uno de los métodos estudiados para garantizar el éxito de la fase larva – postlarva, es el manejo de la primera alimentación de los peces (ATENCIO *et al.*, 2003bc; PRIETO *et al.*, 2006b, PEDREIRA *et al.*, 2008; RIVERA y BOTERO, 2009; ATENCIO *et al.*, 2010; LUNA *et al.*, 2010; MARCIALES *et al.*, 2010); sin embargo, un manejo inadecuado de esta técnica es una de las barreras para el éxito de la larvicultura ya que en esta fase las mayores limitaciones están dadas por el tamaño de la boca, limitada capacidad natatoria, densidades inadecuadas de presas, composición bioquímica del alimento y el precario estado de desarrollo del aparato digestivo con la consecuente ausencia de enzimas digestivas al inicio de la alimentación exógena (SIPAUBA y ROCHA, 2003; CIVERA *et al.*, 2004; RIVERA y BOTERO, 2009). En las especies neotropicales altriciales, antes que se agote el vitelo y la boca esté bien desarrollada, se debe suministrar el primer

alimento, principalmente zooplancton seleccionado de acuerdo con el tamaño de la boca de la larva (PRIETO y ATENCIO, 2008).

En el departamento de Sucre, Colombia, el principal tipo de cultivo es el extensivo, que en algunos casos se debe a la capacidad de producción de los productores, pero sobre todo al desconocimiento de técnicas de manejo que le permitan lograr óptimos resultados, como podría ser el uso de alimento vivo como una alternativa de solución viable (PRIETO, 2001; ATENCIO, 2003a; PRIETO *et al.*, 2006a). En ese sentido, ATENCIO y ZANIBONI (2006) señalan que el éxito de la piscicultura como una bio-industria así como la consolidación de las especies alternativas dependen de los progresos en la larvicultura; etapa en la que varios estudios que relacionan el tamaño de la boca de las larvas de peces y sus capacidades para capturar presas de mayor tamaño indican la viabilidad de los cladóceros (SIPAÚBA, 1993; ATENCIO *et al.*, 2003b, PRIETO *et al.*, 2006b).

El objetivo de este trabajo fue estudiar la historia de vida de *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia reticulata* (Crustacea - Cladocera), bajo condiciones de laboratorio para definir su potencial como alimento en piscicultura.

Materiales y métodos

El trabajo se realizó en el laboratorio de Biología de la Universidad de Sucre, Colombia. Las especies de cladóceros seleccionadas para el estudio fueron *Daphnia magna* y *Ceriodaphnia reticulata*. *D. magna* fue donada por el Laboratorio de Piscicultura del Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA - seccional Santa Marta, Magdalena – Colombia; y *C. reticulata* fue aislada en el Laboratorio de Biología de la Universidad de Sucre, de muestras provenientes de la ciénaga de San Marcos, Sucre – Colombia, tal y como lo recomienda MELAO (1999). El manejo de ambos organismos en el laboratorio comprendió tres días para el establecimiento de un “cultivo” o montaje para mantenimiento de seston en volúmenes de 25 L, el cual se utilizó como alimento de las especies objeto de estudio; manteniendo las dos poblaciones separadas en volúmenes de 5 L y mantenimiento de organismos individuales en volúmenes de 100 ml, para evitar de acuerdo con MELAO (1999), estrés por falta de espacio, alimento, oxígeno o acumulación de excretas.

El seston utilizado como alimento fue una mezcla de colectas de estanques de reproductores de bocachico y tilapia roja (*Prochilodus magdalenae* y *Oreochromis* sp., respectivamente) de la finca piscícola Maraca ubicada en el corregimiento de Hatonuevo en Corozal, Sucre, y de muestras de agua de la ciénaga de San marcos, Sucre; tomando en cada caso una muestra de 60 L de agua filtrada con malla de 40 µm.

Posteriormente, en el laboratorio se utilizaron dos acuarios de vidrio de 25 L

cada uno para el mantenimiento del seston capturado, adicionando al agua 0.2 g de fertilizante químico (15N-15P-15K) cada tres días a las 10:00 horas, para mantener la producción primaria (Caraballo com. per.). Los acuarios se mantuvieron con aireadores por dos horas al día, con el fin de resuspender el alimento, mantener altas las concentraciones de CO₂ necesarias para el crecimiento de las algas y proporcionar oxígeno al medio (Caraballo com. per.).

En el mantenimiento del stock de ambas especies se utilizaron recipientes de 5 L llenados con agua filtrada con malla de 40 µm provenientes de los acuarios. Con esto se establecieron poblaciones suficientes de ambas especies. Cada ocho horas se resuspendió el seston obteniendo una muestra del mismo con beakers de 500 ml que se adicionaba nuevamente a su respectivo recipiente. También, diariamente se renovaron los medios con el 50 % del volumen total como estrategia alimenticia para los cladóceros. Adicionalmente, se proporcionó oxígeno con aireadores en la misma forma que en los acuarios.

Una vez se lograron establecer las poblaciones (por observación de intestinos llenos de color verde y la presencia de huevos en la cámara incubadora, como indicadores de la aceptación del alimento), se seleccionaron hembras cargadas de ambas especies en recipientes diferentes de 250 ml. De estas hembras se aislaron doce neonatos por especie (réplicas), con menos de 12 horas de vida (fueron individuos que nacieron la noche anterior), en recipientes de vidrio individuales de 100 ml con agua filtrada de los acuarios (siguiendo el mismo procedimiento del mantenimiento de las poblaciones de cladóceros), para un total de 24 muestras. Los descendientes obtenidos a partir de cada réplica se contaron y se retiraron diariamente de cada uno de los recipientes (no se les realizó ningún procedimiento, es decir, fueron desechados) (CARABALLO, 1992; PRIETO, 2001; RODRÍGUEZ *et al.*, 2003), procediendo de inmediato a establecer el crecimiento de cada hembra-réplica (tamaño de los individuos, como la distancia entre la parte superior del ojo y la base de la espina caudal), fecundidad diaria (número de neonatos por hembra), desarrollo embrionario (tiempo transcurrido desde la postura de los huevos en la cámara incubadora y la liberación de los neonatos), longevidad (tiempo que transcurre entre el nacimiento y la muerte del individuo) y supervivencia diaria (PRIETO, 2001).

También, se realizaron mediciones de la temperatura del agua durante cada muestreo (dos diarios cada 12 horas hasta la muerte de todos los individuos) la cual fluctuó entre los 26 °C (6:00 horas) y los 30 °C (18:00 horas).

Para determinar el tiempo de desarrollo embrionario de las hembras de diferentes tamaños de cada especie, éstas se mantuvieron en recipientes iguales a los utilizados para el seguimiento de los parámetros poblacionales en los neonatos, observadas al microscopio cada dos horas desde el desove hasta la eclosión, registrando cada una de las etapas del desarrollo de los huevos de acuerdo con los estadios descritos por CARABALLO (1992).

En el análisis de los resultados de los parámetros poblacionales de *D. magna* y *C. reticulata* se emplearon curvas de crecimiento y medidas de tendencia central (media y desviación estándar), y para comparar cada uno de los parámetros poblacionales, se comprobaron previamente los supuestos del análisis de varianzas, y se realizaron ANOVAs de un factor para determinar si existían diferencias significativas entre las especies en cada uno de los parámetros poblacionales evaluados. Para determinar cuáles medias diferían se utilizó la prueba de comparación de Rangos Múltiples de Duncan.

Resultados

D. magna presentó mayor tamaño en lo que respecta a primíparas y adultos, en comparación con *C. reticulata*; como también, mayor producción de huevos por desove. Sin embargo, *C. reticulata* presentó menor edad en la reproducción, mayor número de desoves, mayor fecundidad y menor tiempo en el desarrollo embrionario y en la frecuencia reproductiva. En las Tablas 1 y 2 se presentan los resultados de los parámetros poblacionales evaluados y del diseño estadístico aplicado.

En las Figs. 1, 2, 3 y 4 se presentan el incremento diario del crecimiento, la producción diaria de neonatos, la producción diaria de huevos y la supervivencia de los cladóceros estudiados, respectivamente.

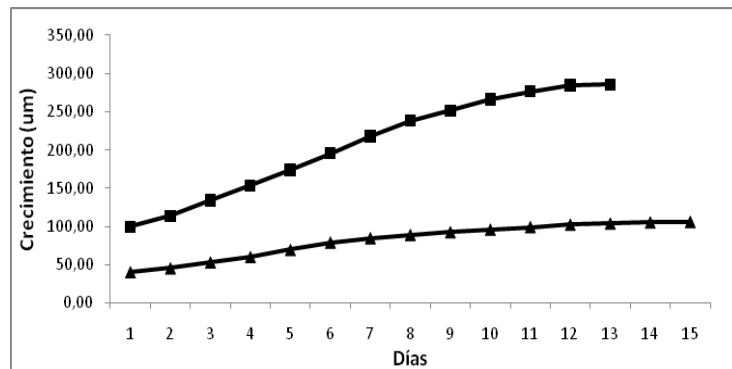
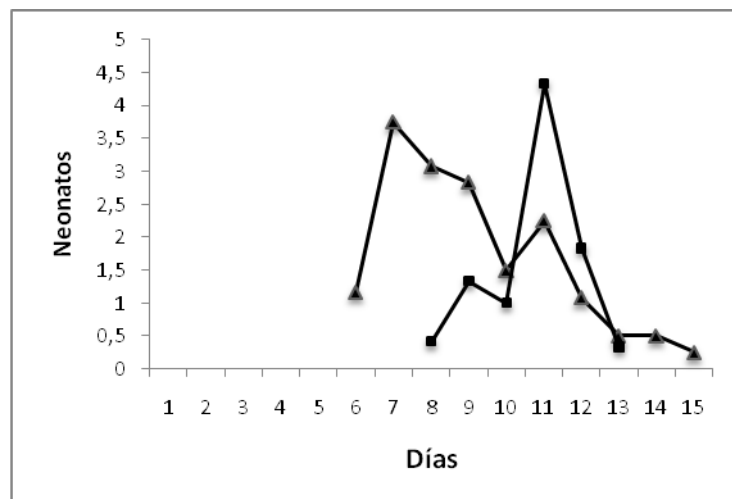
Tabla 1. Parámetros de la historia de vida de *D. magna* y *C. reticulata* (n=12) en condiciones de laboratorio indicando la desviación estándar, la media, los mínimos y máximos de las medidas

Parámetros evaluados	<i>D. magna</i>				<i>D. reticulata</i>			
	Media	Des. Est	Mín	Máx	Media	Des. Est	Mín	Máx
Talla máxima(μm)	287,3	14,85	269	312	101,7	5,44	90	107
Edad primípara (Días)	9	1,3484	7	10	5,917	0,6686	5	7
Talla primípara (μm)	256	13,79	239	290	77,91	3,704	72	84
Fecundidad total	9,25	4,7314	3	20	16,92	7,0383	7	27
Fecundidad media	0,71	0,364	0,23	1,54	1,12	0,468	0,47	1,8
Fecundidad/desove	3,985	1,4122	2,5	7	3,125	0,7474	1,75	4
Desarrollo embrionario(horas)	24				16			
Producción total de huevos	15,67	8,06	6	32	18	7,135	8	29
Producción media de huevos	1,205	0,619	0,46	2,46	1,2	0,475	0,53	1,93
Producción huevos/desove	6,93	3,16	5	16	3,34	0,72	2	4,14
Longevidad (Días)	12,17	0,3892	12	13	11,75	1,8647	8	15
Desoves	2,25	0,6216	1	3	5,333	1,6143	3	8
Frecuencia desoves (horas)	29,83	7,25	18	42	25,73	4,18	20,6	36

Tabla 2. Resultados de los parámetros de la historia de vida de *D. magna* y *C. reticulata* (n=12) en condiciones de laboratorio

Parámetros evaluados	T. Levane	F	Test Est	P- value	P value - K. Wallis
Talla máxima(μm)	0,002		17,31		0,000031*
Edad Primípara (Días)	0,003		16,86		0,000040*
Talla Primípara (μm)	0,019		17,34		0,000031*
Fecundidad total	0,15*	9,807		0,005*	
Fecundidad media	0,336		4,82		0,028*
Fecundidad/desove	0,27*	3,476		0,076	
Producción total de huevos	0,826*	0,56		0,4607	
Producción media de huevos	0,490*	0		0,98	
Producción huevos/desove	0,046		17,4		0,000030*
Longevidad (días)	0,009		0,63		0,42
Desoves	0,001		17		0,00037*
Intervalos entre desoves (horas)	0,044		1,79		0,18

* Denota diferencias significativas

**Figura 1.** Incremento diario del crecimiento (μm) de *D. magna* (■) y *C. reticulata* (▲) (n=12) en condiciones de laboratorio**Figura 2.** Producción promedio diaria de neonatos de *D. magna* (■) y *C. reticulata* (▲) en condiciones de laboratorio

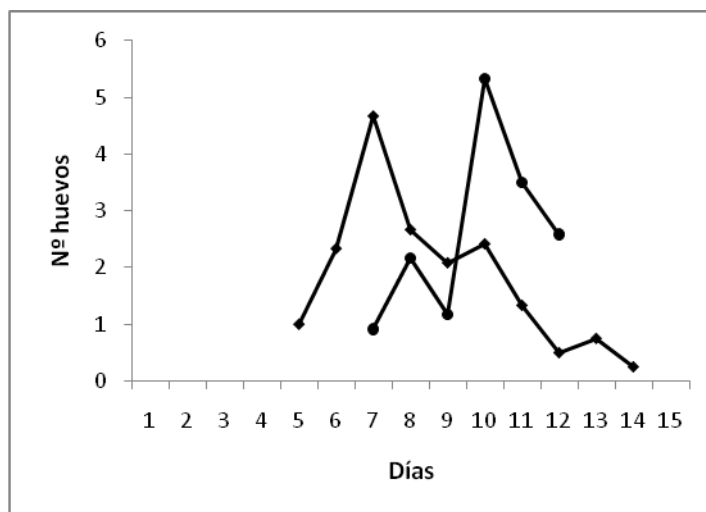


Figura 3. Producción promedio diaria de huevos de *D. magna* (▲) y *C. reticulata* (■) en condiciones de laboratorio

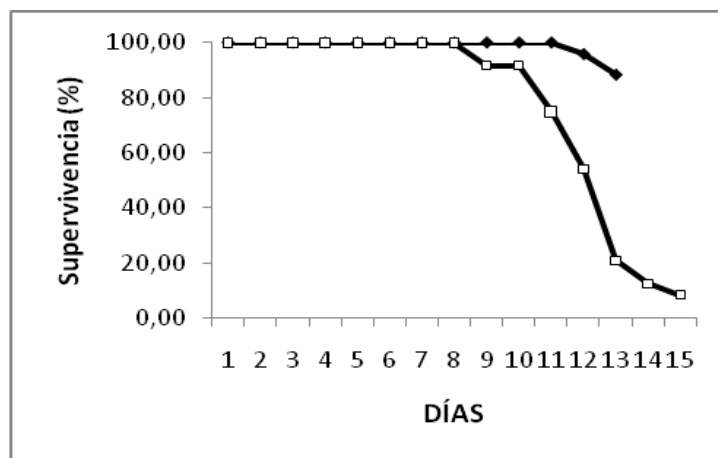


Figura 4. Supervivencia (%) de *D. magna* (◆) y *C. reticulata* (□) en condiciones de laboratorio

Discusión

Crecimiento (talla) y longevidad: El crecimiento en los cladóceros estudiados presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$), siendo mayor la talla de *D. magna* (287,33 μm) que la de *C. reticulata* (101,67 μm). Estos resultados eran de esperarse si se tiene en cuenta que generalmente especies de mayor tamaño como *D. magna* alcanzan mayor crecimiento (LYNCH, 1980; MELAO, 1999). Sin embargo, varios trabajos en cladóceros de los mismos géneros, estudiados bajo condiciones de temperatura y alimento similares al de este estudio reportan crecimientos más altos, por ejemplo CARABALLO *et al.* (2011) en *C. cornuta* registró crecimientos entre 271 y 355 μm , cuando se suministró seston en diferentes fracciones ($< 10 \mu\text{m}$, $< 30 \mu\text{m}$ y $< 60 \mu\text{m}$) entre 28 y 30°C; lo que probablemente indica mejores condiciones del seston para promover el crecimiento, aún cuando la fracción utilizada en esta investigación (fracción del seston $\leq 40 \mu\text{m}$), estuvo dentro de las fracciones empleadas por CARABALLO *et al.* (2011). También, CARABALLO (1992) y CHOUERI *et al.* (2007)

registraron mayor crecimiento en *C. cornuta*. El primer autor, reportó un crecimiento de 598 y 540 μm en organismos mantenidos en laboratorio y en mediciones realizadas *in situ*, respectivamente; suministrando como alimento fitoplancton ($< 60 \mu\text{m}$). Por su parte, CHOUERI *et al* (2007), usando seston (filtrado con malla de 68 μm) encontró un crecimiento de 504 μm . Igualmente, FILETO *et al.* (2007) obtuvo mayor crecimiento de *C. richardi* (0,80 mm), *D. ambigua* (0,90 mm), y *D. gessneri* (1,16 mm) usando seston natural, lo que sugiere que el seston utilizado en esos trabajos fue de mejor calidad. De este modo, FILETO *et al.* (2004) plantea que la calidad del alimento no sólo está definida en función del tamaño de la partícula, sino también por características bioquímicas como la composición de ácidos grasos esenciales y otros nutrientes.

Con relación a la longevidad, CARABALLO (1992) en *C. cornuta* reportó 25 días en condiciones de laboratorio y 22 días *in situ*, a 29 °C; y en *D. gessneri* 21 días en laboratorio y 17 días *in situ* (29 °C), resultados mayores a los de las especies estudiadas; lo que sugiere un efecto pronunciado del seston en este parámetro de la historia de vida de los cladóceros bajo estudio.

En *D. magna* se ha reportado una mayor longevidad 39,4 días a menor temperatura (25°C) (ANDERSON y JENKINS, 1942) con relación a la registrada en este trabajo (12,16 días). Al respecto, VENTURA (2008) encontró una relación inversa entre la temperatura y la longevidad de *C. rigaudi*. La corta duración de la vida de las especies evaluadas, sobre todo *D. magna*, podría estar relacionada con la disponibilidad y/o calidad del alimento tal y como lo señala LYNCH (1992), quien encontró dramáticos incrementos de la mortalidad de *C. quadrangula* y *D. ambigua* cuando la disponibilidad del alimento declinó. El tamaño y rápido crecimiento alcanzado por los cladóceros estudiados permiten definir el potencial que poseen estos organismos como alimento vivo en piscicultura, sobre todo en el manejo de la primera alimentación de postlarvas de *Prochilodus magdalenae*, *Brycon sinuensis* y *Colossoma macropomum*, principales especies piscícolas en la región; en la medida que estos peces poseen una abertura bucal máxima (bocachico y cachama entre 650 y 750 μm y dorada entre 1100 a 1300 μm) adecuada por ingerir este tipo organismos como presas vivas. En este sentido, varios estudios que relacionan el tamaño de la boca de las larvas de peces y sus capacidades para capturar presas de mayor tamaño indican la viabilidad de los cladóceros en piscicultura, especialmente durante el inicio de la alimentación exógena (ATENCIO *et al.*, 2003bc).

Edad y talla de la primípara: La edad y la talla de la primípara de *C. reticulata* (5 a 6 días y 77 μm , respectivamente) fue mayor a la reportada por CHOUERI *et al.* (2007) a 25°C y CARABALLO (1992) a 29 °C, en una especie del mismo género, *C. cornuta*, al encontrar una edad de madurez de 2,45 días y tallas

entre 39,7 y 42,8 μm utilizando seston como alimento; lo que sugiere mejores condiciones del seston utilizado en esos estudios como estrategia alimenticia.

LYNCH (1980) menciona que mejores condiciones de alimentación permiten menor edad y un tamaño mayor de la primípara. Este autor encontró que la edad de la primípara de *D. pulex* se duplicó (de 7,6 días a 14,3 días) cuando el nivel de alimentación fue inferior a 0,25 $\mu\text{g/ml}$, sugiriendo que en condiciones limitantes de alimento la edad de la primípara incrementa, tal y como pudo haber ocurrido en *D. magna* en este trabajo si se tiene en cuenta que la especie alcanzó la madurez a los nueve días. No obstante, CARABALLO (1992) encontró tamaño medio menor y edad menor de la primípara de *C. cornuta*, sugiriendo una estrategia para disminuir la edad y el tamaño para obtener una mejor tasa reproductiva en un medio con fuerte presión de depredación. Sin embargo, en este trabajo, las especies alcanzaron la madurez a una edad mayor y a una talla mayor, lo que podría indicar un ajuste como respuestas a condiciones limitantes de alimento.

La temperatura presenta generalmente una relación inversa con la edad de la primípara; por ejemplo valores mayores de la edad de la primípara (5 y 6.6 días) se registraron en *M. micrura* por RODRÍGUEZ *et al.* (2003) cuando suministró *A. falcatus* y *S. incrassatulus* como dietas a 20°C; pero con el aumento de la temperatura (25°C) la especie alcanzó la madurez a una edad más temprana (entre 3,6 y 4,66 días) utilizando las mismas dietas. Lo anterior, es válido si se tiene en cuenta que a bajas temperaturas los procesos de reproducción y maduración se retardan (Mc KEE y EBERT, 1996), como se observó en *C. rigaudi*, en la que la edad de la primera reproducción fue mayor a 25 °C que a 20 °C (VENTURA, 2008). No obstante, PRIETO (2001) en *Moinodaphnia* sp a menor temperatura (24 °C) que la de este estudio, reporta una edad de la primípara menor (2,5 días); indicando que el seston utilizado como estrategia alimenticia influyó más que la temperatura en la edad de la primera reproducción de los cladóceros estudiados.

En el caso de *D. magna*, la temperatura podría considerarse un factor que limitó edad de la primera reproducción, al registrarse una longevidad de 12,16 días a una temperatura promedio de 28 °C, si se tiene en cuenta que esta especie para alcanzar la madurez a 10°C tarda 11 días (MELAO, 1999), que es un tiempo similar pero a la longevidad registrada en este estudio. De este modo, *D. magna* presentó una estrategia similar a *C. reticulata* con relación a la disponibilidad de alimento (cantidad y calidad) ya que la especie alcanza el estadio de primípara en un tiempo de 2 días a 25°C (MELAO, 1999), ó 7 - 8 días a 22°C (SÁNCHEZ, 2006).

Fecundidad total, media y por desove: En *C. rigaudi*, VENTURA (2008), encontró que cuando se le ofreció como alimento *A falcatus* a 20 °C la progenie total fue de 35,5 nts/hembra; mientras que al aumentar el nivel de temperatura

hasta 25°C con la misma dieta la fecundidad fue de 45 nts/hembra. Este comportamiento, en función de la temperatura podría ser el observado en *C. reticulata* en este estudio, cuya fecundidad fue mayor que los valores registrados por varios autores en LYNCH (1980) en la misma especie a 20°C. Sin embargo, cuando a *C. rigaudi* se le ofreció *C. vulgaris* como dieta a 20°C y 25°C los resultados fueron inferiores (9,8 nts/hembra y 16,6 nts/hembra, respectivamente), lo que indica que además de la temperatura, la oferta y calidad del alimento influyen en la fecundidad.

En *D. magna* la fecundidad total fue muy baja si se compara con los valores registrados por SÁNCHEZ (2006), quien encontró valores de 131,7 nts/hembra en organismos control en ensayos de toxicidad, mantenidos a 22°C durante 21 días ofreciendo *Nannochloris oculata* como alimento. También son menores a los registrados por BEATRICE (2001) en una especie del mismo género, en *D. similis*, alimentada con tres dietas (T1: algas, T2: ración de artemia fermentada y T3: la combinación de los tratamientos anteriores), obteniéndose los mejores resultados con el tratamiento T3 cuyos valores oscilaron entre 244 y 351 nts/hembra en un periodo de 21 días a 20 °C. Sin embargo, hay que considerar que la especie es de aguas templadas, y en esas condiciones se espera un mejor desempeño reproductivo. Además, los organismos utilizados en el trabajo fueron mantenidos a temperatura ambiente tal y como se hace en el laboratorio de piscicultura del SENA – Santa Marta, pero ofreciendo microalgas como dieta para logra mantener poblaciones suficientes para los trabajos que allí se realizan. Lo anterior sugiere que si bien la especie se adaptó a las condiciones de temperatura en el ensayo, el sestion fue limitante para promover la fecundidad.

Al relacionar la fecundidad con la longevidad encontramos que *C. reticulata* tuvo una mayor reproducción total y fue menos longeva comparada que *D. magna*. Sin embargo, en ambos parámetros no se encontraron diferencias significativas ($P>0.05$) entre las especies, lo que indica que estos parámetros de la historia de vida de estos cladóceros pudieron ser afectados de la misma forma por las condiciones del cultivo, en el sentido de un corto periodo de vida y baja fecundidad total.

Con relación a la fecundidad por desove RODRÍGUEZ *et al* (2003) en *M. micrura* encontró que esta se incrementó con el aumento de la temperatura. Los valores de neonatos por desove fueron de 10,58 y 9,35 a 20 °C, ofreciendo como alimento *A. falcatus* y *S. incrassatulus*, respectivamente; y cuando se evaluó este parámetro a 25 °C los resultados fueron de 11,2 y 9,33 en las dietas mencionadas, respectivamente. De acuerdo con el autor, el efecto de la temperatura en el mantenimiento de *M. micrura* a 25 °C fue más importante que el de las microalgas utilizadas como alimento, porque dicho factor afecta el desarrollo y metabolismo de los individuos. Además, si se tiene en cuenta que los alimentos se suministraron en igual cantidad, las diferencias en la forma y

en las dimensiones de las algas, determinarían diferencias en las cantidades aplicadas en términos de biomasa. Sin embargo, FONSECA y ROCHA (2004) con un nivel inferior de temperatura (25 °C) en *C. silvestrii*, obtuvieron valores mayores en la fecundidad por desove (9,45 nts/hembra) cuando suministraron *Monoraphidium dibowskii* como dieta. Lo anterior evidencia que en este trabajo el factor alimento (cantidad y calidad) probablemente fue mas importante en la fecundidad por desove de estas especies (entre 3,1 y 3,9 nts/hembra) en la medida que el nivel de temperatura en este trabajo fue mayor.

A pesar de lo anterior, PRIETO (2001) obtuvo resultados similares en condiciones diferentes al de este trabajo en la fecundidad por desove de *Moinodaphnia* sp (3,09 nts/hembra y 3,78 nts/hembra suministrando *Chlorella* sp y *Ankistrodesmus* sp a 24 °C), considerando a la especie como una alternativa para ampliar la disponibilidad de alimento vivo de pequeño tamaño, resaltando su potencial como especie apta para el inicio de la alimentación exógena en las primeras fases del crecimiento de peces de agua dulce.

ARBACIAUSKAS y LAMPERT (2003) reportaron resultados mayores durante los tres primeros desove en *D. magna*, con valor de 10 nts/desove. Adicionalmente, cuando se incrementó la concentración del alimento (desde 0., mg C/l a 0,4 y 1,5 mg C/l), la fecundidad por desove mejoró considerablemente (entre 24,4 y 26,8 nts/desoves a 0,4mg C/l y entre 89,4 y 113,7 nts/desove a 1,5 mg C/l), lo que evidencia las limitaciones del seston en este trabajo para promover una mejor tasa reproductiva por desove.

C. reticulata a pesar de ser una especie de menor tamaño presentó mayor fecundidad media que *D. magna*, aún cuando en la producción media de huevos no se obtuvieron diferencias significativas ($P \geq 0.05$), lo que indica una mayor eficiencia en la tasa de eclosión de *C. reticulata*. Esta eficiencia también se pudo constatar al observar que la producción de huevos por desove presentó diferencias significativas ($P \leq 0.05$) (siendo mayor en *D. magna*) pero no la fecundidad por desove en estos cladóceros. Adicionalmente, hay que resaltar que *C. reticulata* presento mayor número de desoves que *D. magna* con diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Tiempo de desarrollo embrionario (TDE): En *C. reticulata* se registró un TDE de 16 horas a 28°C, menor al registrado en la misma especie por SHUBA y COSTA (1972), quienes reportaron un tiempo de 38 horas a 24°C; lo que indica que a mayor temperatura menor TDE. También, en otras especies del mismo género se registraron mayores TDE (superiores a las 24 horas) con niveles inferiores de temperatura con respecto al de este trabajo; por ejemplo, CHOUERI *et al.* (2007) en *C. cornuta* (entre 27,1 y 32,6) y SANTOS *et al.* (2006) en *Ceriodaphnia silvestrii* (entre 38,6 y 41,5 horas). De manera general, se observa que el TDE aumenta con el descenso de la temperatura (MELAO, 1999).

En *D. magna* el TDE fue de 24 horas, valor inferior al reportado por ARBACIAUSKAS y LAMPERT (2004), quienes registraron un tiempo de 6,4 días a 18,5 °C. Sin embargo, OBRESHKOVE y FRASER (1940) y ANDERSON y JENKINS (1942), encontraron que el TDE en la misma especie tarda alrededor de 46 horas a 25 °C. No obstante, HARDY y DUNCAN (1994) en una especie del mismo género, *D. gessneri*, reportan un tiempo igual al de este estudio cuando se mantuvo a 32 °C y 1 mg C/L; pero cuando se disminuyeron los niveles de temperatura (27 y 22 °C) y alimento (0.5, 0.25, 0.1, 0.05 y 0.03 mg C/L) el TDE aumento considerablemente entre 38 y 54 horas a 27 °C y entre 50 y 63 horas a 22 °C. Estas diferencias se presentan probablemente debido al nivel de temperatura en que se llevaron los estudios, en la medida que altas temperaturas promueven una mayor actividad natatoria y una mayor tasa de ingesta de alimento, que también se relaciona con mayores ritmos metabólicos y maduración más rápida de los huevos (AMARASINGHE *et al.*, 1997; MELAO, 1999).

Producción de huevos por desove, total y media, y desoves: La producción de huevos por desove en *C. reticulata* (3,44 huevos/desove/hembra) fue más baja que la reportada por FONSECA y ROCHA (2004) de 10 huevos/desove/hembra en una especie del mismo género, *C. silvestrii* mantenida a 25 °C; lo que evidencia mejores condiciones del cultivo relacionadas principalmente con la calidad del alimento ofrecido (*Monoraphidium dibowskii* y 143 mg CaCO₃/L). Sin embargo, AMARASINGHE *et al.* (1997) en *C. cornuta* reportaron menores valores entre 1 y 2,6 huevos/desove/hembra a 22,5 y 32,5 °C, respectivamente; señalando un efecto más marcado con la mayor concentración del alimento (Chlorophylla 10 µg/l y 50 µg/l) al aumentar la producción de huevos, pero con las más bajas temperaturas la producción disminuyó. Estos mismos autores en *M. micrura* registraron con la máxima concentración de alimento en las tres temperaturas evaluadas valores similares (3,2 y 3,7 huevos/desove/hembra) al de este estudio; lo que demuestra un efecto distinto sobre las especies, pero con una mayor influencia de la calidad del alimento sobre este parámetro reproductivo. Al respecto, CARABALLO *et al.* (2011) y CARABALLO (1992), mencionan que la concentración del alimento y la temperatura afecta el número de huevos producidos por las hembras, siendo el alimento el factor más importante en la determinación del número de huevos por desove.

Con respecto a *D. magna*, HANSKI y RANTA (1983), tomando datos de varios autores presentan un rango entre 14 y 65 huevos/desove/hembra, muy superior al registrado en este estudio (6,93 huevos/desove/hembra), evidenciando condiciones limitantes de estos factores en este estudio.

La producción total de huevos/hembra en el presente estudio tuvo un valor en *C. reticulata* de 18, inferior a lo reportado por CHOUERI *et al.* (2007) en *C. cornuta*, quienes encontraron valores totales entre 30,9 y 51 huevos/hembra,

aun cuando esta especie fue de menor tamaño. También en *D. magna* la producción total de huevos/hembra fue más baja comparada con los resultados de Sánchez (2006) en la misma especie, quien reportó valores de 131,7 huevos/hembra en individuos mantenidos a 22 °C y alimentados con microalgas, indicando limitaciones de estos factores en este trabajo. De acuerdo con ARBACIAUSKAS y LAMPERT (2003) la baja producción de huevos, podría estar relacionada con la baja calidad del alimento, ya que en estas condiciones los organismos producen pocos huevos pero de mayor tamaño y más resistentes.

No se encontraron diferencias significativas ($P \geq 0.05$) en la producción total y media de huevos en ambos cladóceros, probablemente por la corta duración de vida de *D. magna*, que tampoco presentó diferencias significativas ($p \geq 0.05$) en su longevidad con *C. reticulata*; lo que probablemente a su vez ocasionó limitaciones en estos parámetros reproductivos, si se tiene en cuenta que *D. magna* puede llegar a vivir entre 12 y 35 días a 25 °C; y entre 40 y 75 días a 10 °C (HANSKI y RANTA, 1983). También, las diferencias en la producción de huevos por desoves, se explican por la maduración más temprana de *C. reticulata* y su mayor número de desoves (5,33 desoves) con relación a *D. magna* (2,25 desoves) con quien presentó diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) en este parámetro reproductivo. De acuerdo con VENTURA (2008) este parámetro reproductivo es afectado por el tipo de alimento (calidad y cantidad), ya que cuando alimentó a *C. rigaudi* con *A. falcatus* obtuvo mayor número de desoves por hembra en ambas temperatura (11 y 7,4 desoves a 20 y 25 °C, respectivamente), mientras que con *P. subcapitata* los valores fueron menores (7,8 y 5,4 a 20 y 25 °C, respectivamente).

Los resultados obtenidos en el número de desoves en *D. magna* son inferiores a los reportados por SÁNCHEZ (2006), cuyo valor fue de 5 desoves durante 21 días a 22 °C. Incluso, los datos de HANSKI y RANTA (1983) muestran un rango entre 11 y 19 durante el tiempo de vida de esta especie. No obstante, hay que considerar que en este trabajo la longevidad de *D. magna* fue de 12 días, y esta especie precisamente se caracteriza por su gran longevidad y tamaño que le confieren una alta fecundidad; de modo, que las condiciones de este trabajo limitaron el número de eventos reproductivos de la especie.

Frecuencia reproductiva: PRIETO (2001), reporta en su trabajo para *Moinodaphnia* sp un tiempo de renovación del desove de 24 horas, similar al de *C. reticulata* (25,7 horas) en este estudio aún cuando las condiciones de temperatura (24 °C) y alimento (microalgas) fueron diferentes; lo que indica que sólo se requirió el tiempo necesario para el desarrollo embrionario y que el alimento ofrecido influyó más en la frecuencia reproductiva. Sin embargo, en *D. magna* la frecuencia del desove se presentó en un mayor tiempo (29,83 horas), lo que puede estar definido por las especies y/o las condiciones de manejo en

cada caso destacando como principales factores, la temperatura, calidad y cantidad de alimento.

Generalmente, la temperatura presentan una relación inversa con la frecuencia reproductiva, así lo demostró RODRÍGUEZ *et al* (2003) en *M. Micrura* al registrar valores de 43,61 y 41,56 horas a 20 °C con *A. falcatus* y *S. incrassatulus*, respectivamente; mientras a 25°C se registraron tiempos de 27,22 y 26,22 horas con los mismos alimentos, respectivamente. Igualmente, LURLING *et al.* (1997) reportan mayores valores de intervalos entre desoves en *D. magna* y *D. cucullata*, en comparación a los obtenidos en este trabajo, oscilando entre 4 y 4,1 días en *D. magna* y entre 2,6 y 3,3 días en *D. cucullata*, cuando fueron mantenidas a 22 °C y alimentadas con formas unicelulares y coloniales de *S. acutus*.

Supervivencia: De acuerdo con VENTURA (2008) este parámetro es afectado directamente por la temperatura, al encontrar que *C. rigaudi* cultivada a 20 °C y alimentada con microalgas, presentó mortalidad hasta después del noveno día disminuyendo gradualmente desde el décimo día hasta el día 56. Sin embargo, a 25 °C la mortalidad inicia entre el cuarto día y se prologa hasta el día 30. Estos resultados son similares a los obtenidos en *C. reticulata* a pesar que la mortalidad comenzó a registrarse hasta después de los días octavo y noveno, y a partir del día 11 la supervivencia comenzó a disminuir gradualmente hasta la muerte de todos los organismos el día 15. Sin embargo, hay que resaltar que la mortalidad se inició después de alcanzada la madurez; lo que sugiere una estrategia a las limitaciones de alimento para lograr reproducirse.

Con relación a *D. magna*, ANDERSON y JENKINS (1942) encontraron que la curva de supervivencia a 25 °C utilizando como medio de cultivo una mezcla de estiércol y suelo es de cero aproximadamente hasta el día 25, disminuyendo el 50% de la población luego de 34 días de cultivo. De forma general, en esta especie se ha reportado mayor longevidad y supervivencia en temperaturas más bajas o subtropicales comparadas con las registradas durante este estudio.

Se concluye que *D. magna* y *C. reticulata* por su ciclo de vida simple y corto, y principalmente por su tamaño y rápido crecimiento tienen potencial para ser utilizadas como fuente de alimento vivo en el manejo de la primera alimentación de postlarvas de peces como bocachico, dorada y cachama, principales peces de la región, que poseen una abertura bucal máxima entre 650 y 1300 µm, que posibilita su consumo. Adicionalmente, el método empleado en el manejo de las especies en condiciones de laboratorio favorecen su comportamiento reproductivo y crecimiento, permitiendo su aplicación por los piscicultores del departamento de Sucre, Colombia, como una estrategia práctica y viable para la obtención de una dieta viva con

partículas de pequeño tamaño que amplíe la disponibilidad de estrategias de alimentación durante la fase de larvicultura en sus granjas piscícolas.

Agradecimientos: A la Universidad de Sucre, Colombia por el espacio permitido en el laboratorio de Biología y por los permisos para asistir a clases todas las semanas durante dos años, al Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia de Manaus, Brasil por el curso Manejo e Produção de Zooplâncton sin ningún costo y a los evaluadores anónimos por sus valiosos aportes y sugerencias para la publicación de este artículo.

Referencias

AMARASINGHE, B.; BOERSMA, M.; VIJVERBERG, J. 1997. The effect of temperature, and food quantity and quality on the growth and development rates in laboratory-cultured copepods and cladocerans from a Sri Lankan reservoir. *Hydrobiologia* 350:131-144.

ANDERSON, B.; JENKINS, J. 1942. A time study of events in the life span of *Daphnia magna*. *Biological Bulletin* 83:260-272.

ARBACIAUSKAS, K.; LAMPERT, W. 2003. Seasonal adaptation of ex-ephippion and parthenogenetic offspring of *Daphnia magna*: differences in life history and physiology. *Functional Ecology* 17:431-437.

ATENCIO, V.; PERTUZ, V.; PÉREZ, F.; ORTIZ, R.; PARDO, S. 2010. Manejo de la primera alimentación de dorada *Brycon sinuensis* ofreciendo larvas de bocachico *Prochilodus magdalenae*. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias* 23(3):317-324.

ATENCIO, V.; ZANIBONI – FILHO, E. 2006. El canibalismo en la larvicultura de peces. *Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia* 11 Supl(1):9-19.

ATENCIO, V. 2003a. Producción de alevinos de peces migratorios continentales en Colombia. II Congreso Iberoamericano Virtual de Acuicultura. Disponible en: <http://www.civa2003.org>. Consultado el 1 de junio de 2011

ATENCIO, V.; KERGUELÉN, E.; WADNIPAR, L.; NARVÁEZ, A. 2003b. Manejo de la primera alimentación del bocachico (*Prochilodus magdalenae*). *Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia* 8(1):254-260.

ATENCIO, V.; ZANIBONI, E.; PARDO, S.; ARIAS, A. 2003c. Influência da primeira alimentação na larvicultura e alevinagem do yamú *Brycon siebenthalae* (Characidae). *Acta Scientiarum* 25(1):61-72.

BEATRICI, A. 2001. Avaliação da fertilidade e sensibilidade de *Daphnia similis* (CRUSTACEA, CLADOCERA) submetida a três diferentes dietas. Curso de Bacharelado (Bacharel em Ciências Biológicas, Ênfase Ambiental). Instituto de Biociências da Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Área de Concentração em Ecologia.

CARABALLO, P.; SANCHEZ, A.; FORSBERG, B.; LEITE, R. 2011. Crescimento populacional e análise isotópica de *Diaphanosoma spinolosum* e *Ceriodaphnia cornuta* (Crustacea: Cladocera), alimentadas com diferentes frações de seston natural. *Acta Scientiarum* 33(1):11-19.

CARABALLO, P. 1992. Historia e dinâmica populacional de *Daphnia gessneri* e *Ceriodaphnia cornuta* (Crustacea - Cladocera) no lago Calado, Amazonas. Tesis de Maestría (Maestro em Ciências Biológicas). Instituto Nacional de Pesquisas da Amazonia. Fundação Universidade do Amazonas. Área de Concentração em Biologia de Água Doce e Pesca Interior.

CHOUERI, R.; MELAO, M.; LOMBARDI, A.; VIEIRA, A. 2007. Effects of cyanobacterium exopolysaccharides on life-history of *Ceriodaphnia cornuta*. *Journal of Plankton Research* 29(4):339-345.

CIVERA, A & MOYANO, F. 2004. Nutrición y alimentación de larvas de peces marinos. En: Cruz, L; Ricque, D; Tapia, M; Nieto, M; Villarreal, D; Scholz, U & González, M (Eds). VII memorias del VII simposium internacional de nutrición acuícola. Hermosillo, Sonora, México. 1-87pp.

FERRÃO-FILHO, A.; ARCIFA, M.; FILETO, C. 2003. Resource limitation and food quality for cladocerans in a tropical Brazilian lake. *Hydrobiologia* 491:201-210.

FILETO, C.; ARCIFA, M.; MARCHETTI, J.; TURATI, I.; LOPES, N. 2007. Influence of biochemical, mineral and morphological features of natural food on tropical cladocerans. *Aquatic Ecology* 41(4):557-568.

FILETO, C.; ARCIFA, M.; FERRÃO-FILHO, A.; SILVA, L. 2004. Influence of phytoplankton fractions on growth and reproduction of tropical cladocerans. *Aquatic Ecology* 38:503-514.

FONSECA, A.; ROCHA, O. 2004. The life-cycle of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday, 1902, a neotropical endemic species (Crustacea - Cladocera - Daphnidae). *Acta Limnologica Brasiliensa* 16(4):319-328.

HANSKI, I.; RANTA, E. 1983. Coexistence in a patchy environment: Three species of *Daphnia* in Rock Pools. *Journal of Animal Ecology* 52(1):263-279.

HARDY, E.; DUNCAN, A. 1994. Food concentration and temperature effects on life cycle characteristics of tropical Cladocera (*Daphnia gessneri* Herbst, *Diaphanosoma sarsi* Richard, *Moina reticulata* Daday). I. Development time. *Acta Amazonica* 24(1/2):119-134.

KEPPELER, E.; HARDY, E. 2002. Estimativa do tamanho das fêmeas com ovos de *Moina minuta* Hansen, 1899 (Cladocera, Crustacea) no lago Amapá, Rio Branco, Estado do Acre, Brasil. *Acta Scientiarum* 24 (2):321-328.

LYNCH, M. 1980. The evolution of cladoceran life histories. *The Quarterly Review of Biology* 55(1):23-42.

LUNA, J.; VARGAS, Z.; FIGUEROA, J. 2010. Alimento vivo como alternativa en la dieta de larvas y juveniles de *Pterophyllum scalare* (Lichtenstein, 1823). Avances en Investigación Agropecuaria 14(3):63- 72.

LURLING, M.; DE LANGE, H.; VAN DONK, E. 1997. Changes in food quality of the green alga *Scenedesmus* induced of *Daphnia* infochemicals: biochemical composition and morphology. Freshwater Biology 38:619-628.

MARCIALES, L.; DÍAZ, J.; MEDINA, V.; CRUZ, P. 2010. Evaluación del crecimiento y sobrevivencia bagre rayado *Pseudoplatystoma fasciatum* (Linneaus, 1766) alimentadas con alimento vivo natural y enriquecido con ácidos grasos. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 23(3):308-316.

Mc KEE, D.; EBERT, D. 1996. The effect of temperature on maturation threshold body-length in *Daphnia magna*. Oecología 108:627-630.

MELAO, M. 1999 Desenvolvimento e aspectos reprodutivos de cladóceros e copépodos de águas continentais brasileiras. Em Pompêo, M. L. M. (Ed.) Perspectivas na Limnologia do Brasil. 1 ed. São Luís, MA, Brasil, 1:45-57.

OBRESHKOVE, V.; FRASER, A. 1940. Growth and differentiation of *Daphnia magna* eggs in vitro. Biological Bulletine 78(3):428-436.

OCAMPO, L.; BOTERO, M.; RESTREPO, L. 2010. Evaluación del crecimiento de un cultivo de *Daphnia magna* alimentado con *Saccharomyces cerevisiae* y un enriquecimiento con avena soya. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias 23(1):78-85.

PEDREIRA, M.; DOS SANTOS, J.; SAMPAIO, E.; PEREIRA, F.; SILVA, J. 2008. Efeito do tamanho da presa e do acréscimo de ração na larvicultura de pacamã. Revista Brasileira de Zootecnia 37(7):1144-1150.

PRIETO, M.; ATENCIO, V. 2008. Zooplankton en la larvicultura de peces neotropicales. Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia 13(2):1415-1425.

PRIETO, M.; DE LA CRUZ, L.; MORALES, M. 2006a. Cultivo experimental del cladóceros *Moina* sp alimentado con *Ankistrodesmus* sp y *Saccharomyces cerevisiae*. Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia 11(1):705-714.

PRIETO, M.; VIEIRA, P.; FERREIRA DE MORAES, G.; OKAMURA, D.; GUEDES DE ARAÚJO, F. 2006b. Tipo de alimento, sobrevivência e desempenho inicial de pós-larvas de pacu (*Piaractus mesopotamicus*). Ciência e Agrotecnologia 30(5):1002-1007.

PRIETO, M. 2001. Aspectos reproductivos del cladóceros *Moinodaphnia* sp en condiciones de laboratorio. Revista Medicina Veterinaria y Zootecnia 6(2):102-110.

RIVERA, C; BOTERO, M. 2009. Alimento vivo enriquecido con ácidos grasos para el desarrollo larvario de peces. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 22:607-618pp.

RODRÍGUEZ, J.; VILLASEÑOR, R.; MARTÍNEZ, F. 2003. Efecto de la temperatura y tipo de alimento en el cultivo de *Moina micrura* (Kurz, 1874) (Anomopoda: Moinidae) en condiciones de laboratorio. Hidrobiológica 13(3):239-246.

SÁNCHEZ, M. 2006. Alteraciones fisiológicas como consecuencia de la exposición a plaguicidas en sucesivas generaciones de *Daphnia magna*. Tesis doctoral (Doctor en Ciencias Biológicas). Universidad de Valencia. Facultad de Ciencias Biológicas. Área de Biología Funcional y Antropología Física.

SANTOS, M.; MELAO, M.; LOMBARDI, A. 2006. Life history characteristics and production of *Ceriodaphnia silvestrii* Daday (Crustacea, Cladocera) under different experimental conditions. Acta Limnologica Brasiliensa 18(2):199-212.

SIPAUBA, L.; ROCHA, O. 2003. Producao de placton (Fitoplancton e zooplancton) para alimentação do organismos aquáticos. Editorial São Carlos RiMa. Brasil.

SIPAUBA, L. 1993. Análise da seletividade alomental em larvas de tambaqui (*Colossoma macropomun*) e Tambacu (Híbrido Pacu – *Piaractus mesopotamicus*) sobre os organismos zooplanctônicos. Acta Limnologica Brasiliensa, 4:114-132.

VENTURA, C. 2008. Biología reproductiva de *Ceriodaphnia rigaudi* Richard (1894) (Crustacea: Anomopoda) y efectos de su exposición a petróleo crudo. Tesis de Maestría (Maestro en Ciencias Quimicobiológicas). Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas de México D.F.